

Efecto de diferentes tipos de semilla en la propagación de *Agave fourcroydes* Lem. variedad 'Sac Ki' sobre indicadores relacionados con el crecimiento en vivero

Gerardo González Oramas*, Maryla Sosa del Castillo, Silvia Alemán García, Enildo Abreu Cruz
*Autor para correspondencia

Facultad de Agronomía. Autopista a Varadero km 3 ½ Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. *Autor de correspondencia. e-mail: gerardo.gonzalez_umcc@umcc.cu; oramascuba07@gmail.com

RESUMEN

Se realizó un estudio durante 15 meses en condiciones de vivero, con el objetivo evaluar el efecto de diferentes tipos de semilla (plantas cultivadas *in vitro* (V), hijos de bulbillos de plantas *in vitro* (BV), hijos de rizomas de plantas *in vitro* (RV), hijos de bulbillos de plantas de campo (BPC) e hijos de rizomas de plantas de campo (RPC) en la propagación del henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) sobre indicadores relacionados con el crecimiento en vivero. Los indicadores evaluados fueron: altura de la planta, número de hojas, área foliar, oscilación diurna de la acidez titulable, contenido de carbohidratos solubles y azúcares reductores. Los resultados indicaron, que a pesar de no mostrar diferencias significativa en altura entre BPC y las posturas derivadas de plantas *in vitro* (BV e RV), en estas últimas se alcanzó un mayor desarrollo dada la mayor capacidad para acumular y consumir ácido titulable y lograr mayor contenido de azúcares reductores y de carbohidratos solubles totales. Se comprobó que la altura está influenciada por el tipo de semilla que se emplea en la propagación del henequén así como los indicadores fisiológicos y bioquímicos relacionados con el desarrollo, sugieren que las posturas derivadas de plantas *in vitro* (BV e RV) presentaron una mejor respuesta a la eficiencia biológica.

Palabras clave: acidez titulable, henequén, plantas *in vitro*, posturas

Effects of different types of seed in *Agave fourcroydes* Lem. variety 'Sac Ki' propagation over indicators related to the growth in nursery

ABSTRACT

A study was conducted during 15 months under nursery conditions, with the objective to evaluate the effect of different types of seed (*in vitro* grown plants (V), bulbils of *in vitro* plants (BV), rhizomes of *in vitro* plants (RV), bulblets of field plants (BPC) and rhizomes of field plants (RPC) in the propagation of the henequen (*Agave fourcroydes* Lem.) over indicators related to the growth in the nursery. The indicators evaluated were: plant height, number of leaves, leaf area, daytime oscillation of the titratable acidity, soluble carbohydrates and reducing sugars content. The results indicate that despite of not showing significant differences in height between BPCs and postures derived from *in vitro* plants (RV and BV), the latter reached a greater development due to their bigger capacity to accumulate and consume titratable acid and to achieve superior content of reducing sugars and total soluble carbohydrates. It was demonstrated that the height is influenced by the type of seed that is used in the henequen propagation of moreover the physiological and biochemical indicators related to the development suggest that postures derived from *in vitro* plants (RV e BV) showed a better response to the biological efficiency.

Keywords: henequen, *in vitro* plant, postures, titratable acid

INTRODUCCION

El henequén, al igual que otros representantes del género *Agave*, es pentaploides (n=30) con reducida fertilidad (Piven *et al.*, 2001), donde la escasa reproducción sexual que pudiera ocurrir es

excluida por la práctica habitual de cortar la inflorescencia (González *et al.*, 2011), para evitar el efecto negativo que la floración causa a la calidad de la fibra.

El uso del *Agave* es amplio, incluyendo la preservación del paisaje y la erosión del

suelo, pero su mayor importancia económica, está en la utilización de las hojas y tallos como fuente de materia prima de fibras (sisal), bebidas (el tequila) y el jugo respectivamente (Garriga *et al.*, 2010).

En Cuba en el cultivo del henequén se experimentó un descenso de los rendimientos (Abreu *et al.*, 2009). En la década de los 90, del siglo pasado, descendió a 3000 T y en la cosecha del 2006 disminuyó a 800 T. Los bajos rendimientos de fibras han estado afectados fundamentalmente por baja población de la plantación, por agotamiento de la fertilidad del suelo, por mal manejo de la cosecha que afecta la vida útil de las plantas, por la alta incidencia de las malezas y por problemas industriales, entre otros. En plantaciones de henequén que existen en Matanzas se presenta un elevado grado de deterioro, disminución gradual de los campos cultivados y las posturas de calidad. Esto ha conllevado a una reducción significativa en la producción de fibra, donde la desaparición de los viveros, entre otras causas, ha incidido en la calidad y cantidad de las posturas.

La solución a este problema conlleva al empleo de plantas propagadas por vía biotecnológica (González *et al.*, 2011) y producidas convencionalmente a partir de ese material vegetal (hijos de rizoma y

bulbillos aéreos). Sin embargo, el uso de estos tipos de posturas sugieren la evaluación comparativa de su crecimiento en vivero que permitan la selección de estas según su desarrollo biológico pues lo tradicional desecha el empleo de los hijos aéreos o bulbillos y utiliza solo los hijos de rizomas.

En los trabajos realizados y abordados en la literatura científica solo se hace referencia a la comparación entre los hijos de rizomas y plantas procedentes del cultivo *in vitro*, es por ello que se propone evaluar el efecto de diferentes tipos de semilla en la propagación del henequén (*Agave fourcroydes* Lem) sobre indicadores relacionados con el crecimiento en vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se desarrolló en el vivero de la Granja La Conchita perteneciente a la Empresa Henequenera de Matanzas Eladio Hernández y en el Centro de Estudios Biotecnológicos de la Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. El trabajo se ejecutó durante 15 meses desde el 16 de marzo de 2009 al 25 de junio de 2010. La temperatura (°C) (Diurna/nocturna) y humedad relativa (%) en el periodo evaluado se muestran en la figura 1.

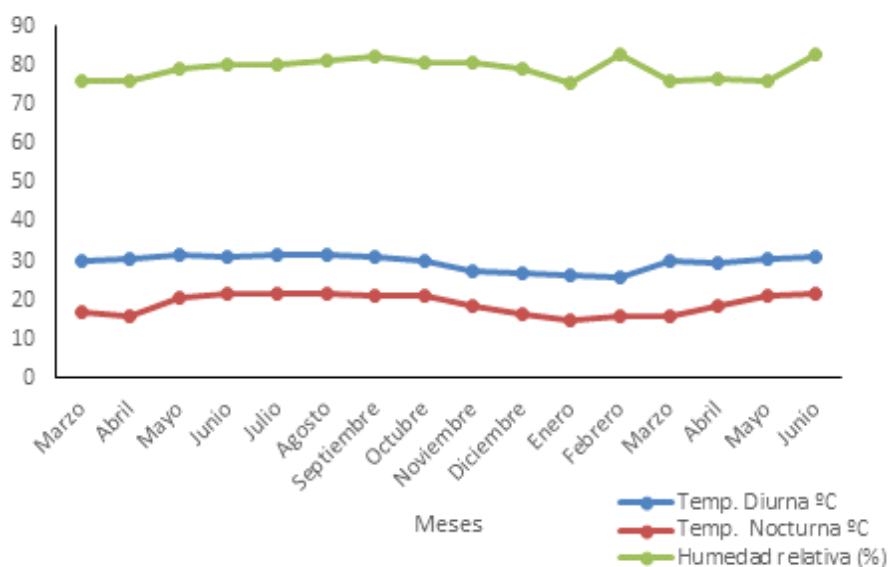


Figura 1. Temperaturas medias y humedad relativa en el periodo de estudio.

Material vegetal

Se utilizaron cinco tipos diferentes de semilla para la propagación del henequén: plantas *in vitro* (V), hijos de bulbillos de plantas *in vitro* (BV), hijos de rizomas de plantas *in vitro* (RV), hijos de bulbillos de plantas de campo (BPC) e hijos de rizomas de plantas de campo (RPC). Las posturas provenían de la variedad 'Sac Ki' o henequén blanco (pentaploides $n=30$, Piven *et al.*, 2001), seleccionadas del germoplasma de la Empresa Henequenera de Matanzas Eladio Hernández, la cual presenta características similares a la colección de plantas conservadas *in situ* de la Unidad de Recursos Naturales del CICY (González *et al.*, 2011). Las plantas empleadas con altura entre 10 y 12 cm se caracterizaron por mostrar un óptimo estado fisiológico y fitosanitario, las plantas *in vitro* tenían 30 días de aclimatación y un mes en condición semi controlada (plena luz y riego) en la cual se mantuvieron las posturas de rizoma y bulbillos para garantizar su correcto enraizamiento.

Se empleó como sustrato 20 cm de pulpa de henequén descompuesta con 12% (m/m) de materia orgánica en canteros con un marco de plantación de 10x10 según Abreu *et al.* (2009) en los que se plantaron los distintos tipos de posturas. Se distribuyeron 400 plantas en cinco parcelas diferentes con cuatro repeticiones y 20 individuos de cada tipo de postura. El área estuvo ubicada a 15 msnm. Las evaluaciones se realizaron a los 7 meses de cultivo, periodo en que las posturas deben alcanzar la altura para iniciar su establecimiento en los viveros y a los 15 meses cuando las posturas presentan alturas de 40 a 50 cm, listas para ser llevadas a plantación comercial. Toda el área experimental se mantuvo bajo un régimen de riego encaminado a corregir la falta de agua cuando la lluvia no cubriera esta necesidad.

Indicadores morfológicos

El conteo de las hojas y la medición de la altura se realizaron a partir de la primera semana de la siembra de los diferentes tipos de posturas. Las mediciones de las hojas y la altura se realizaron siguiendo la metodología descrita por Nobel (2009) para especies de Agaves. Para ambas variables

se realizaron ocho muestreos. En cada uno de estos se seleccionaron al azar cinco plantas de cada parcela para un total de 20 plantas por cada tipo de postura.

La determinación del área foliar se realizó según Abreu *et al.* (2009). Debido a la morfología triangular que presenta la hoja de henequén se calculó el área foliar mediante la siguiente fórmula: Área Foliar (cm) $AF = \text{Largo} \times \text{Ancho} \times 0.68$ (constante).

Indicadores fisiológicos y bioquímicos

Se determinaron los cambios en la acidez titulable del jugo foliar de los diferentes tipos de semilla empleados en la propagación del henequén.

La fluctuación diurna de pH y de ácidos orgánicos, característicos del metabolismo CAM, se estableció como la diferencia entre los niveles de estos, determinados entre el comienzo y final del fotoperíodo. A la semana de plantadas las parcelas y a los 15 meses de establecido el ensayo se tomaron muestras foliares de 10 individuos de cada tipo de postura tanto a las 7 como a las 18 horas, con un horador de área conocida (0.004 cm^2), en la parte media de las pencas pertenecientes al 5º par de hojas contando del centro hacia fuera. Se pesaron 2 g de masa fresca utilizando una balanza de campo. Las muestras se procesaron inmediatamente en el laboratorio.

La acidez titulable se evaluó según la metodología descrita por Rodés y Collazo (1996) donde los resultados se expresaron en miliequivalentes ácido g^{-1} tejido y la fórmula utilizada fue la siguiente:

Miliequivalentes ácido g^{-1} tejido $P\% = (V_m (N) / PM)$.

Dónde: V_m (ml): Volumen de NaOH consumido por el control y cada una de las muestras.

N: Número de equivalentes L^{-1} , Normalidad de la solución de NaOH.

PM: masa fresca de la muestra (g).

Las muestras de hojas tomadas en la mañana también se emplearon para evaluar el contenido de azúcares reductores (mg ml^{-1}) y de carbohidratos solubles totales (mg ml^{-1}).

Se determinó el contenido de azúcares reductores y carbohidratos solubles totales a partir de la maceración de 1 g de masa fresca foliar en 2 ml de fosfato de potasio 0.5 mM pH 7.0. El macerado se centrifugó a 10 000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante se transfirió a tubos de Eppendorf de 2 ml. Siguiendo la metodología modificada del Fenol-Sulfúrico se determinó el contenido de carbohidratos solubles totales (Mahadevan y Sridhar, 1986). Los reductores se determinaron según la técnica del Dinitrosalisílico (Sumner, 1921), para ambas determinaciones se establecieron curvas patrones.

Análisis estadísticos

Todos los datos fueron procesados según paquete Statgraphic plus 5.1 sobre WINDOW. Se determinó el ajuste a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de Bartlett (Sigarroa, 1985). Se aplicó ANOVA de clasificación simple y Test de Duncan para comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Indicadores morfológicos

El período de evaluación influyó significativamente en todas las variables evaluadas lo que sugiere

una interacción directa dependiente del ambiente (Tabla 1). A los 210 días (25/10) y a los 450 días (20/06) de la siembra se produjeron los mayores incrementos en altura, los que se diferenciaron del resto pero no se diferenciaron entre ellos, sin embargo el menor incremento se produjo a los 330 días (20/02) que coincide con el período invernal donde las temperaturas fueron más bajas (Figura 1) y de forma general los días se hacen más cortos.

En todos los periodos evaluados se produjeron incrementos del área foliar, sin embargo el mayor valor se alcanzó en el último período (450 días de la siembra) el cual diferenció significativamente del resto de los tratamientos. Estos incrementos no fueron proporcionales en relación con el paso del tiempo, pues los valores se elevaron hasta el tercer período (210 días de la siembra), a partir del cual se observaron decrementos hasta el quinto período (330 días de la siembra) donde se recuperaron los incrementos.

En la emisión de nuevas hojas (número de hojas) se produjo un patrón de respuesta similar al incremento en altura pues a los 210 días (25/10) y a los 450 días (20/06) se presentaron los mayores incrementos en número de hojas, los que se diferenciaron del resto pero no se diferenciaron entre ellos, sin embargo el menor incremento se produjo a los 330 días (20/02).

Tabla 1. Indicadores morfológicos evaluados en plantas de *Agave fourcroydes* Lem. variedad 'Sac Ki' durante 15 meses de cultivo en vivero.

| Período de Evaluación | Fecha | Altura (cm) | Área foliar(cm ²) | Número de hojas |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------------------------|-----------------|
| 16-04 al 27-06 | 27 Junio | 3.79 c | 36.55 f | 1.38 c |
| 27-06 al 10-08 | 10 agosto | 5.57 b | 159.38 d | 1.76 b |
| 10-08 al 25-10 | 25 octubre | 8.59 a | 214.93 c | 2.83 a |
| 25-10 al 16-12 | 16diciembre | 4.69 b | 142.21 d | 1.61 c |
| 16-12 al 20-02 | 20 febrero | 2.70 d | 60.18 e | 0.86 d |
| 20-02 al 17-04 | 17 abril | 5.65 b | 315.62 b | 2.10 b |
| 17-04 al 20-06 | 20 Junio | 8.22 a | 1370.45 a | 2.94 a |
| Significación | | * | * | * |
| Esx | | 0.70 | 4.75 | 3.14 |

Medias con letras diferentes representan diferencias significativas entre las variantes ($p \leq 0.05$) según la prueba de Duncan. Esx- Error Standard

Los resultados indicaron que los cambios ambientales (incremento o disminución de la temperatura, figura 1), alteraron la emisión de nuevas hojas, el incremento en altura y en área foliar.

La superficie foliar es una de las variables más importante en los cultivos debido a las funciones metabólicas de las hojas. Esta depende del número de hojas que se emiten y la superficie que logran alcanzar. El desarrollo foliar tiene una relación directa con las condiciones ambientales en que crecen las plantas; la luz y la temperatura son variables importantes en su desarrollo. En los resultados derivados de este ensayo, se evidenció una respuesta diferenciada del cultivo a las variaciones climáticas, pues en la época de altas temperaturas se produjeron incrementos en todas las variables evaluadas y una disminución de todas estas en la época de frío. Este resultado estuvo en correspondencia con lo informado por Otero *et al.* (2010) quienes plantearon que cierto grado de humedad y temperaturas cálidas favorecen el crecimiento significativo del henequén, sin embargo el ritmo de crecimiento se retarda por causas de bajas temperaturas pues el frío reduce la actividad meristemática, el contenido de fibras en las hojas y la emisión foliar.

En este sentido, Taiz y Zeiger (2002) indicaron que las hojas que crecen en altas temperaturas poseen mayor expansión foliar que cuando lo hacen a bajas temperaturas. Ello explica que con las bajas temperaturas en el quinto período (16 de diciembre al 20 de febrero), se redujeran los incrementos en área foliar y se afectara, además, la emisión de nuevas hojas.

Por otra parte, se ha referido que la temperatura nocturna es el factor ambiental más importante en la regulación de la fotosíntesis en *A. tequilana* (Weber) debido a que los valores más altos de asimilación neta diaria de CO₂ se registran con temperaturas frescas durante la noche (12-16°C) (Pimienta-Barrios *et al.*, 2005). De igual forma, los resultados de este trabajo pudieran relacionarse con lo anteriormente descrito.

En esta especie de henequén las temperaturas nocturnas también deben ser frescas, alrededor de 20°C, pues valores inferiores retardan el crecimiento y la emisión de nuevas hojas, lo que ha sido informado por Abreu *et al.*

(2009) con plántulas establecidas en pre-vivero en el período comprendido entre noviembre a marzo lo que corresponde a las temperaturas más bajas y días más cortos para las condiciones climáticas de Cuba.

El tipo de semilla influyó significativamente en la respuesta del incremento en altura y en el área foliar, sin embargo, la emisión de nuevas hojas o incremento en número de hojas no fue afectado (Tabla 2).

Se apreció que el mayor incremento en altura se produjo en los propágulos BV, RV y BPC que no diferenció entre ellos, pero sí del resto. A continuación se situó V y con el valor más pequeño, significativamente diferente, RPC, que no alcanzó la altura de siembra en campo que oscila entre 44 y 45 cm de altura, lo que dificulta su plantación y requiere mayor tiempo en el vivero.

Según Peña *et al.* (1997) el enraizamiento y desarrollo de este tipo de postura (RPC) es lento, por ello a pesar de presentar la mayor altura (datos no mostrados) al inicio del ensayo fue el de menor incremento final en altura, sin embargo, los hijos de rizoma de planta *in vitro* (RV) a pesar de tener la misma vía de propagación se diferenciaron con valores superiores pues su calidad está directamente relacionada al vigor, estado nutricional y estado fitosanitario de la planta madre que en este caso fueron plantas *in vitro*.

El área foliar (Tabla 2) mostró una respuesta similar a la altura, sin embargo, las posturas derivadas de la combinación del cultivo *in vitro* y la propagación convencional (BV y RV) alcanzaron los valores más elevados, lo que sugiere que la expansión foliar se convierte en un evento morfogénico con mayor eficiencia pues en estas se combinan el rejuvenecimiento que le trasmite la planta *in vitro* y la robustez de la propagación convencional.

A pesar de las diferencias estadísticas que se produjeron en incremento en altura y área foliar en la comparación de los distintos tipos de semilla utilizada para la propagación del henequén, no se alteró el ritmo de emisión de nuevas hojas lo que indica que genéticamente es un proceso muy conservado en la variedad 'Sac Ki' o henequén blanco, dado la característica de esta especie de presentar un crecimiento lento.

Tabla 2. Efecto del tipo de semilla sobre variables morfológicas de plantas de *Agave fourcroydes* Lem. variedad 'Sac Ki'.

| Tipo de semilla | Altura (cm) | Área foliar |
|-----------------|-------------|-------------|
| V | 38.73 b | 2081.87 bc |
| Bv | 44.00 a | 2334.25 a |
| Hrv | 44.15 a | 2227.94 a |
| Bpc | 42.62 a | 2101.68 b |
| Hrpc | 33.80 c | 1975.56 c |
| Significación | * | * |
| Esx | 0.19 | 4.66 |

Medias con letras diferentes representan diferencias significativas entre las variantes ($p \leq 0.05$) según la prueba de Duncan. V: Plantas *in vitro*, Bav: Bulbillo aéreo de planta *in vitro*, Hrv: Hijo de rizoma de planta *in vitro*, Hbpc: Hijo bulbillo de planta de campo, Hrpc: Hijo de rizoma de planta de campo. Esx- Error Standard

Los resultados alcanzados en este trabajo se diferencian de los obtenidos por Días (1993) quien encontró que hijos de rizomas de plantas de henequén propagadas convencionalmente necesitaron menos tiempo para alcanzar los 35- 40 cm, (20 meses), en relación con plantas provenientes de cultivo de tejidos que les tomó 28 meses.

Las posturas hijas de plantas *in vitro* (BV y RV) presentaron el mayor incremento del área foliar lo que sugiere que la calidad del vivero y de las plantaciones se pueden alcanzar con este tipo de postura pues la combinación de la propagación biotecnológica, que trasmite rejuvenecimiento, con la convencional, que garantiza la robustez, lo favorecen.

Indicadores fisiológicos y bioquímicos

Los valores de acidez titulable mostraron un aumento en las primeras horas de la mañana y una clara disminución hacia las primeras horas de la tarde (Tabla 3).

Al inicio (7:00 am) se puede observar (Tabla 3) que el mayor contenido de acidez titulable se cuantificó en las posturas provenientes de hijos de plantas *in vitro* (BV y RV), los que no diferenciaron entre ellos, a continuación se ubicaron BPC y RPC, por último con el menor contenido de acidez titulable se situó en las plantas *in vitro*. En esta misma etapa pero a las 4:00 pm, la disminución del contenido de ácido fue similar en todas las variantes, lo cual

originó una respuesta significativa del consumo donde fue mayor en las posturas BV e RV. En las plantas *in vitro* se cuantificó el menor valor de consumo (16 microequivalente $H^+ \cdot g^{-1}$ tejido), lo que sugiere una menor eficiencia o capacidad para acumular ácido.

A los 450 días de la siembra (final del ensayo) se cuantificó a las 7:00 am un incremento del contenido de ácido en todas las variantes con relación a lo cuantificado al inicio del ensayo, lo que sugiere que con el incremento del crecimiento vegetativo se eleva la capacidad para acumular ácido.

El patrón de respuesta en la acumulación indicó que los valores fueron significativamente mayores (Tabla 3) en las posturas provenientes de hijos de plantas *in vitro* (BV y RV) los que no diferenciaron entre ellos, a continuación se ubicaron las plantas *in vitro* (V), y por último con la menor acumulación que difirió del resto RPC y BPC. La magnitud de la oscilación diurna de acidez titulable obtenida en plántulas de henequén independiente de su vía de propagación responde a una regulación CAM.

Se puede suponer que los valores de pH determinados antes de la titulación del extracto dependieron de la incorporación del CO_2 en forma de ácidos orgánicos y de los procesos de acidificación-desacidificación de los contenidos celulares, como consecuencia de la ruta metabólica CAM, exhibida por todas las posturas estudiadas.

Tabla 3. Evaluación de la capacidad de oscilación diurna de acidez titulable en posturas de *Agave fourcroydes* Lem. variedad 'Sac Ki' procedente de diferentes tipos de semilla.

| Tipo de propágulo | Inicio (7 días) | | | Final (450 días) | | |
|-------------------------|--|--|--|--|--|--|
| | 7:00 am | 4:00 pm | Consumo | 7:00 am | 4:00 pm | Consumo. |
| | $\mu\text{eq H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$ | $\mu\text{eq H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$ | $\mu\text{eq H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$ | $\mu\text{eq H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$ | $\mu\text{eq H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$ | $\mu\text{eq H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$ |
| Plantas <i>in vitro</i> | 46 c | 30 | 16 d | 163 ab | 18 | 145 b |
| Bv | 89 a | 31 | 58 a | 185 a | 18 | 167 a |
| Hrv | 80 a | 32 | 48 b | 179 a | 20 | 159 ab |
| Bpc | 62 b | 30 | 32 c | 152 b | 24 | 128 c |
| Hrpc | 54 b | 26 | 28 c | 148 b | 23 | 125 c |
| Error Est. | 0.004 | 0.0003 | 0.005 | 0.004 | 0.0007 | 0.005 |
| Significación | * | NS | * | * | NS | * |

Medias con letras diferentes representan diferencias significativas entre las variantes ($p \leq 0.05$).

V: plantas *in vitro*, BV: Bulbillo aéreo de planta *in vitro*, RV: Hijo de rizoma de planta *in vitro*,

BPC: Hijo de bulbillo de planta de campo, RPC: Hijo de rizoma de planta de campo

La capacidad de esta especie de acumular ácidos orgánicos, en este ensayo, durante las noches parece responder favorablemente al buen suministro de agua y a la utilización como único sustrato de la pulpa de henequén descompuesta (20.0 cm de alto), la cual suministra un nivel balanceado de nutrientes y buena aireación.

En *A. tequilana* se ha comprobado que la asimilación de CO_2 por las plantas jóvenes durante el día y la noche ocurre a través de la combinación de la sendas fotosintéticas C3 (día) y C4 (noche), y son un ejemplo de plasticidad fotosintética que se refleja en la optimización en el uso del agua, el balance de carbono en la planta y el aprovechamiento de la luz en condiciones favorables de temperatura y humedad durante el verano (Dodd *et al.*, 2002).

El uso de la ruta fotosintética C3 permite que algunas plantas CAM maximicen la ganancia de carbono cuando las condiciones ambientales son favorables, en particular, cuando aumenta la disponibilidad de agua (Pimienta-Barrios *et al.*, 2005).

Los resultados obtenidos indican que con el incremento del consumo de los ácidos titulables fue posible el aumento de la fijación de CO_2 y ello estimuló el crecimiento y desarrollo de las plantas, al proveerlas de más carbohidratos los cuales se usan en el mantenimiento del metabolismo, en la

formación de estructuras y en la acumulación como reserva, lo que se evidencia en el hecho de que la variable en que más se estimuló el crecimiento entre los diferentes tipos de posturas, fue el área foliar, pues las hojas se convierten en sumideros de carbohidratos y en consecuencia se estimula una mayor expansión foliar con relación al incremento en número de hojas y altura.

El incremento significativo del consumo de ácido titulable en todas las posturas utilizadas, sobre todo en las plantas derivadas de la propagación *in vitro*, bajo las condiciones de este ensayo, sugieren la necesidad de cambiar las condiciones de los viveros tradicionales pues uno de los efectos negativos que se generan en estos es la disminución de la eficiencia de la ruta metabólica para la fijación de carbono lo que conlleva a que las plantas permanezcan en estos por un tiempo superior a los 16 meses, incluso, utilizando posturas con tallas superiores a 14 cm de alto.

Al inicio del ensayo el mayor contenido de carbohidratos solubles totales se produjo en los tratamientos BV y BPC que no diferenciaron entre ellos pero sí del resto (Figura 2).

A los 450 días (final del ensayo), se cuantificaron incrementos en todos las variantes en relación con el inicio, sin embargo el incremento en los tipos de semillas relacionados con la propagación *in vitro* (RV, BV y V) fue marcadamente superior. Estos no diferenciaron

entre ellos, pero sí mostraron su superioridad estadísticamente en relación con relación a las variantes derivadas de plantas de campo.

Al inicio del ensayo, el contenido de carbohidratos solubles totales se correspondió con el tipo de semilla pues las posturas aéreas procedentes tanto de plantas *in vitro* como de campo presentaron valores similares que no diferenciaron entre ellas, al igual que los hijos de rizoma pero con valores inferiores.

Este resultado sugiere que en los bulbillos aéreos se estimula más rápido o tiene mayor eficiencia la fotosíntesis, además como estos provienen de la inflorescencia y esta estructura ejerce la mayor potencia como sumidero, posibilita una mayor acumulación de fotoasimilatos. Sobre lo anterior, Peña *et al.* (1997) plantearon que los bulbillos aéreos presentan un desarrollo tanto foliar como radical más rápido que los hijos de rizoma.

En el henequén con el incremento de la superficie fotosintética se eleva la producción de azúcares que se utilizan para el crecimiento y en última instancia, se almacenan en el tallo (Larqué *et al.*, 2004). Ello sugiere que la expansión foliar (Tabla 2) que se alcanza en BV y en RV se favorece entre otros factores, por una mayor producción de carbohidratos solubles totales (Figura 2).

El bajo contenido de carbohidratos solubles totales en plantas *in vitro*, al inicio del ensayo, evidenció una reducida acumulación de esta fuente de energía, lo que repercutió en el proceso de su crecimiento y desarrollo. Por otra parte, este bajo contenido pudiera ser la respuesta a una elevada actividad hidrolítica, la cual se corresponde con el alto contenido de azúcares reductores lo que sugiere una situación estresante, dado por su respuesta en relación con la evaluación de los indicadores medidos.

Los carbohidratos solubles totales presentes en las hojas de los agaves, los cuales son importantes como reserva de energía, están compuestos principalmente por sacarosa, glucosa fructosa y en menor cantidad xilosa y maltosa (López y Mancilla-Margalli, 2002). Estos fotoasimilatos juegan un papel importante en el metabolismo intermediario, transferencia y almacenamiento de energía. Cada una de esas funciones es dinámica, y la concentración de varía grandemente con el estado fisiológico de la planta.

En la etapa inicial tanto en las plantas *in vitro* (V) como en BV y RV se cuantificaron los mayores contenidos de azúcares reductores aunque plantas *in vitro* (V) no diferenció significativamente de RPC (Figura 3). El menor contenido correspondió a BPC.

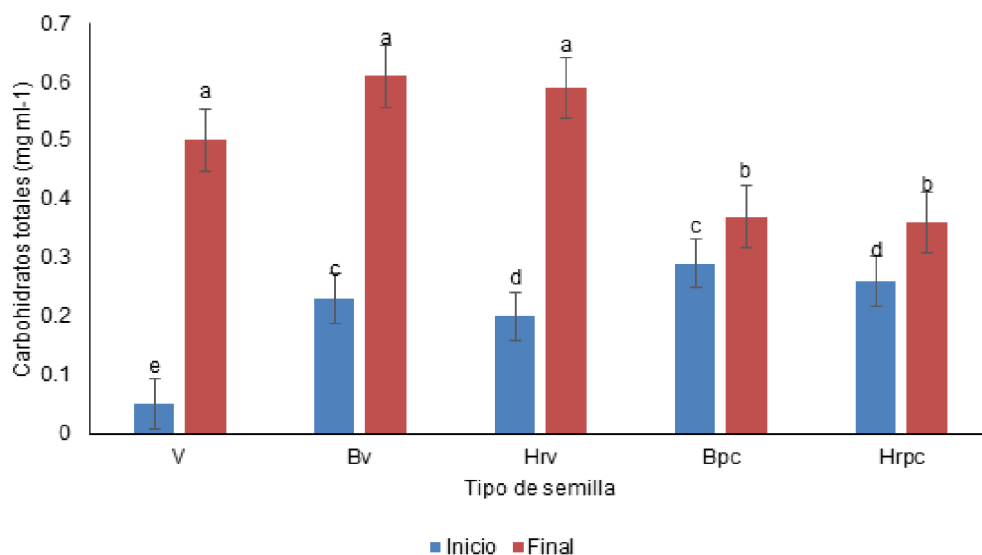


Figura 2. Contenido de carbohidratos solubles totales en diferentes tipos de semilla de *Agave fourcroydes* Lem. variedad 'Sac Ki'. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas entre las variantes ($p \leq 0.05$) según la prueba de Duncan. V: plantas *in vitro*, BV: Bulbillo aéreo de planta *in vitro*, RV: Hijo de rizoma de planta *in vitro*, BPC: Hijo de bulbillo de planta de campo, RPC: Hijo de rizoma de planta de campo.

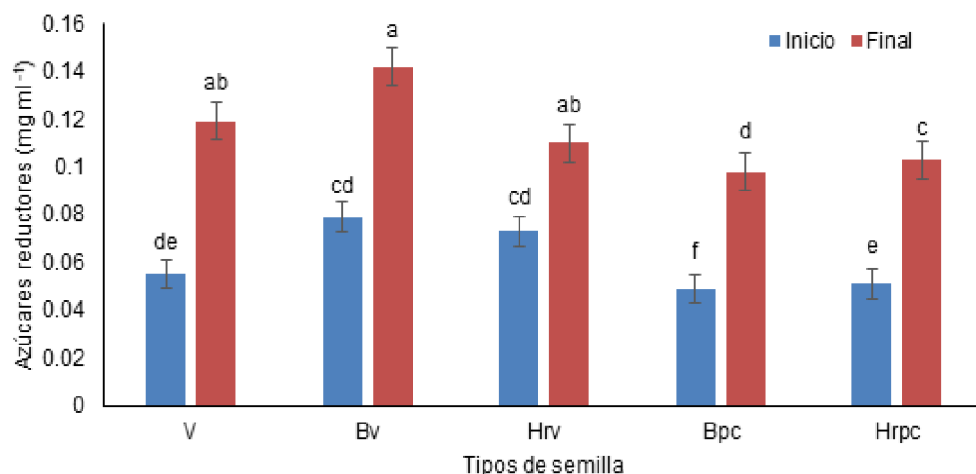


Figura 3. Contenido de azúcares reductores en plantas de diferentes tipos de semilla de *Agave fourcroydes* Lem. variedad 'Sac Ki'. Letras diferentes sobre barras representan diferencias significativas entre las variantes ($p \leq 0.05$) según la prueba de Duncan. V: plantas *in vitro*, BV: Bulbillo aéreo de planta *in vitro*, RV: Hijo de rizoma de planta *in vitro*, BPC: Hijo de bulbillo de planta de campo, RPC: Hijo de rizoma de planta de campo.

Estos resultados indicaron que el mayor crecimiento que se alcanzó en las posturas derivadas de plantas *in vitro* (BV e Hrv) estuvo relacionado con un incremento en la en el contenido de azúcares, a partir de los cuales estas plantas producen más sustancias orgánicas y una mayor disponibilidad de material combustible para la respiración.

En plantas la producción de azúcares a través de la fotosíntesis es un proceso vital pues el contenido de azúcar modula y coordina la regulación interna y las señales ambientales que gobiernan el crecimiento y desarrollo. Por ejemplo, una hexoquinasa que actúa como un sensor de glucosa, modula la expresión de genes y de múltiples vías de señalización de sustancias reguladoras del crecimiento en plantas (Smeekens, 2000).

Con los resultados logrados se sugiere como consecuencia del incremento en área foliar y de un incremento del contenido de azúcares reductores y de carbohidratos solubles totales (glucosa, fructosa, sacarosa) al final del ensayo, se produce un mayor crecimiento y desarrollo en semillas relacionadas con la micropropagación, destacándose BV y RV motivado por una mayor fijación nocturna de CO_2 que se corrobora en el incremento del consumo de los ácidos titulables.

CONCLUSIONES

Los resultados descritos anteriormente sugieren que la altura está influenciada por el tipo de postura que se emplea en la propagación del henequén, así como los indicadores fisiológicos y bioquímicos relacionados con el desarrollo, sugieren que las posturas derivadas de plantas *in vitro* (BV e RV) presentaron una mayor calidad de su eficiencia metabólica en interacción con las condiciones ambientales. Las condiciones climáticas con temperatura media superior a 30/20°C favorecen el crecimiento y desarrollo de las plántulas de henequén en fase de vivero, por el contrario, inferiores retardan la velocidad de su crecimiento.

REFERENCIAS

- Abreu, EO (2009) Aclimatización de plántulas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) y su evaluación en la etapa de previvero. La Habana. Tesis (en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas) Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). La Habana
- Días, R (1993) Evaluación de material vegetativo de henequén proveniente de cultivo de tejidos. Plaza. Memorias Conferencia Nacional sobre el henequén y la zona henequenera de Yucatán, pp. 161- 164. INIFAP. Mérida
- Dodd A N, A M Borland, R PHaslam, H Griffith, K Maxwell (2002) Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. J. Exp. Bot. 53: 569-580

- Garriga C M, González G, Alemán S, Abreu E, Quiroz K, Caligari Peter, García-González R (2010) Chilean Journal of Agricultural Research 70(4):545-551
- González G, Alemán S, Abreu E, Figueroa H, Toapanta P, Doam Cuc (2011) Evaluación de la cosecha de plantas seleccionadas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem) y propagadas *in vitro*. Revista Ciencia Amazónica 2 (2): 13-16
- Larqué - Saavedra A, A Magdub-Méndez, M Cáceres-Farfán (2004) Proceso para la fabricación de bebida alcohólica a partir del henequén (*Agave fourcroydes*). Patente de invención 219235, otorgada por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. Centro de Investigación Científica de Yucatán, México.
- López M G, N Mancilla-Margalli (2002) Generation of maillanal compounds from inulina during termal processing of *Agave tequilana* Weber var Azul. Journal Agricultural and Food chemistry 50: 806-812
- Mahadevan A, Sridhar R (1986) Estimation of total soluble sugar. Methods in physiological plant pathology. 3rd ed., pp. 147-148. Sivakami Publications Chennai
- Nobel, P S (2009) Physicochemical and Environmental Plant Physiology. Fourth Edition. Elsevier. Academic Press. London
- Otero B R, Valdez C, Igarza SA, Rodríguez Z (2000) Efecto de la norma e intervalo de riego en el crecimiento y desarrollo del henequén (*Agave fourcroydes*, Lem). Temas de Ciencia y Tecnología 4 (11): 45 – 47
- Peña, E, González G, Berrillo A, Sosa D, Arteaga M, Rittoles D, Pérez D, Torriente Z (1997) Tecnología para la micropropagación del henequén a gran escala. Rev. Jardín Botánico Nacional 18: 169-176
- Pimienta-Barrios E, Zañudo-Hernández J, Nobel PS, García-Galindo J (2005) Respuesta fisiológica a factores ambientales del agave azul (*Agave tequilana* Weber). Scientia-CUCBA 7(2):85-97
- Piven N, Barredo F, Borges I, Herrera M, Mayo A, Herrera L, Robert M (2001) Reproductive biology of henequén (*Agave fourcroydes*) and its wild ancestor *Agave angustifolia* (Agavaceae). i. Gametophyte development. American Journal of Botany 88:1966-1976
- Rodés G, Collazo O M (2006) Manual de Prácticas de Fotosíntesis 1era ed. Universidad Autónoma de México. México DF
- Smeekens S (2000) Sugar-induced signal transduction in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51: 49–81
- Sumner, JB (1921) Dinitrozalicylic acid: a reagent for the estimation of sugar in normal and diabetic. J. Biol. Chem. 47: 5-9
- Taiz L, E Zeiger (2002) Plant Physiology. Sunderland. Massachussetts

Recibido: 24-2-2014

Aceptado: 26-6-2014